Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter)

Morphometrische Studie über den Einfluß von Überdruck auf die Entwicklung einer durch Staubinhalation erzeugten Silikose bei Ratten

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

KLAUS WIERSCHEM

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543926_0074

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter)

Morphometrische Studie über den Einfluß von Überdruck auf die Entwicklung einer durch Staubinhalation erzeugten Silikose bei Ratten

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
KLAUS WIERSCHEM

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan der
Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof.Dr.Brüster

Referent: Prof.Dr. Hilscher

Korreferent: Priv.-Doz.Dr. Lenz

In Dankbarkeit
meinen Eltern
gewidmet.

Morphometrische Studie über den Einfluß von Überdruck auf die Entwicklung einer durch Staubinhalation erzeugten Silikose bei Ratten

Wierschem, K., Grover, R. und Hilscher, W.

Medizinisches Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf

A) Einleitung

Die sogenannte "Neue Österreichische Tunnelbauweise" (NÖT), die gebräuchlichste Methode im modernen Tunnelbau (4), verwendet zur Konsolidierung des Wandgesteins Spritzbeton. Der Beton wird dabei mit einer Geschwindigkeit von etwa 3oo km/h und einem Überdruck von 3 - 5 bar von einer Düse auf die ca. 1 m entfernte Gesteinsfläche aufgespritzt. Bei den Arbeiten unter Tage kommt es durch den Gebrauch von Teilschnittmaschinen, Spritzdüsen und Betonspritzmaschinen zu Quarzfeinstaubkonzentrationen in der Luft, die zum Teil über den gesetzlich festgelegten MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatz-Konzentration) liegen können (6).

Um ein Eindringen von Grundwasser in den Stollen zu verhindern, ist das Arbeiten unter Druckluft beim Vortrieb des Tunnels angezeigt. Das Absenken des Grundwasserspiegels als weitere Möglichkeit führt zur Beeinträchtigung der Umwelt (9).

In der vorliegenden tierexperimentellen Studie an Ratten sollte untersucht werden, ob die Ausdehnung einer Fibrose (Bindegewebsvermehrung), die durch Inhalation eines fibrogen wirkenden Staubes in den Lungen und deren regionären Lymphknoten verursacht wird, durch Überdruck beeinflußt werden kann. Dazu war es erforderlich, die Ausdehnung der in Lungen und Lymphknoten entstandenen "quarzinduzierten Läsionen" zu messen. Unter "quarzinduzierten Läsionen bzw. quarzinduzierten Bezirken" versteht man nach der bisherigen

Definition (5, 11, 12, 13) kleinere und größere Bindegewebsherde, die nach Einwirkung von Quarz oder quarzhaltigen Stäuben, z.B. nach intratrachealer oder intraperitonealer Injektion, in den betroffenen Organen auftreten und sich aus Makrophagen und Fibroblasten bzw. Fibrocyten zusammensetzen sowie im späteren Verlauf retikuläre und kollagene Fasern enthalten.

B) Material und Methodik

Die 15 Tiere der Versuchsgruppe I wurden bei Druckluft (1.5 bar) staubbelastet. Der Gehalt des Staubes (Quarzglas mit der Bezeichnung VP 2o3-oo6 der Fa. Quarzwerke Frechen) betrug im Mittel 1o.o39 mg/m^3 (Standardabweichung 2.183, Varianz 4.766). Die 15 Tiere der Versuchsgruppe II wurden bei Normaldruck staubbelastet. Der Staubgehalt betrug 1o.o63 mg/m^3 (Standardabweichung 2.29, Varianz 5.255).

Die 15 Tiere der Kontrollgruppe III wurden nicht belastet. Auf eine vierte staubunbelastete Überdruckgruppe mußte aus rein technischen Gründen verzichtet werden.
Am Ende des Versuchs wogen die 9 Monate alten weiblichen Wistarratten ca. 25o - 3oo g.

Zur Adaptation an den Überdruck wurden die Tiere der Versuchsgruppe I - staubbelastete Überdruck-Gruppe - ca. 25 Min. vor der Bestäubung eingeschleust und ca. 25 Min. nach der Bestäubung ausgeschleust. Die Tiere der Versuchsgruppe II - staubbelastete Kontrollgruppe - konnten gleichfalls erst nach ca. 25 Min. ausgeschleust werden, um zu vermeiden, daß der in der Druckkammer nach Abschaltung des Bestäubungsgerätes noch im Schwebezustand befindliche Quarzglasstaub aus der Kammer in die umgebende Außenluft ausgetreten wäre.

Die 15 Tiere der staubbelasteten Überdruck-Gruppe (Versuchsdauer 12.1.-16.7.81) und die 15 Tiere der staubbelasteten Kontrollgruppe (Versuchsdauer 19.1.-22.7.81) kamen abwechselnd 7 Tage lang für je 7 Std (8^{30} - 15^{30} Uhr) in die Druckkammer, die auch als Bestäubungskammer diente. Über die technischen Details wird von Friedrichs et al. (3) berichtet werden.

Von den Tieren aller drei Versuchsgruppen wurden nach dem vorgesehenen Abschluß des Versuchs zunächst 5 Ratten pro Gruppe getötet, um festzustellen, ob die Expositionsdauer von 6 Monaten ausreiche, um nennenswerte Veränderungen zu verursachen.

Wie die makroskopischen Untersuchungen der 15 Ratten ergaben, waren die Mediastinallymphknoten der 5 Tiere der quarzglasbelasteten Überdruck-Gruppe (I) deutlich größer als die der 5 Tiere der quarzglasbelasteten Kontrollgruppe (II). Die Mediastinallymphknoten der 5 Ratten der reinen Kontrollgruppe (III) waren sehr viel kleiner als die der Tiere der Gruppen I und II. Die histologischen Untersuchungen der Lungen der 5 Ratten der Gruppe I enthielten mehr quarzinduzierte Läsionen als die der 5 Ratten der Gruppe II.

Nachdem diese ersten Befunde erhoben worden waren, wurden die restlichen 3o Ratten (1o Tiere pro Gruppe) 14 Tage später getötet.

Die Flächen der Lungen, Lymphknoten und quarzinduzierten Bezirke wurden mit dem Bildanalysensystem ASM (Analyse System manuell) der Firma Leitz gemessen. Ebenso fand das Gerät Anwendung bei

der Bestimmung der hyalinisierten Areale in den Lymphknotenläsionen. Hierbei allerdings wurde zusätzlich noch mit polarisiertem Licht gearbeitet, um die Kollagenfasern darzustellen (8).

C) Resultate

I. Makroskopische Befunde

Nach Eröffnung der Brusthöhle konnte bereits bei der orientierenden Untersuchung des Brustraumes festgestellt werden, daß die im vorderen oberen Brustbereich gelegenen Mediastinallymphknoten der Überdrucktiere deutlich größer waren als die der Normaldrucktiere und die letzteren wiederum deutlich größer waren als die der Kontrolltiere. Dieser Befund konnte durch die Bestimmung der Lymphknotengewichte/Tiergewicht objektiviert werden: Die Lymphknoten der Überdrucktiere waren am schwersten und die der Kontrolltiere am leichtesten (Abb. 1). Die Unterschiede zwischen den 3 Tiergruppen waren hochsignifikant ($p < 0{,}001$).

Ein Unterschied im äußeren Aspekt der Lungen konnte nicht festgestellt werden.

II. Mikroskopische Befunde und Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen

Die feingeweblichen Untersuchungen des Lungengewebes ergaben, daß die Lungen aller 3 Gruppen keine infektionsbedingte Ent-

zündungsherde aufwiesen und die Lungen der Überdruck- und Normaldrucktiere quarzinduzierte Läsionen enthielten. Die Läsionen setzten sich zur Hauptsache aus Epitheloidzellen zusammen, die von einem feinen Netzwerk retikulärer Fasern umgeben waren. Durch morphometrische Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß die Lungen der Überdrucktiere mehr quarzinduzierte Läsionen enthielten (162 $\pm$ 47) als die der Normaldrucktiere (1oo $\pm$ 36). Dieser Unterschied war hochsignifikant ($p < o,oo1$). Die von den quarzinduzierten Läsionen eingenommene Fläche pro Tier war bei den Überdrucktieren absolut und relativ hochsignifikant größer ($p < o,oo1$) als bei den Normaldrucktieren (Abb. 2). Eine Untergliederung der quarzinduzierten Läsionen nach Größenklassen (Abb. 3) zeigt, daß die quarzinduzierten Läsionen im Bereich von 2.15o/um^2 bis 6.15o/um^2 bei den Überdrucktieren signifikant häufiger vorkamen als bei den Normaldrucktieren. Aber auch die quarzinduzierten Läsionen, die eine größere Fläche als 6.15o/um^2 einnahmen, waren bei den Überdrucktieren vermehrt vertreten. Die Maxima der Herdverteilung lagen bei Überdruck- und Normaldrucktieren annähernd im gleichen Bereich von 1.65o - 2.15o/um^2 bzw. 2.15o - 2.65o/um^2 (Abb. 3).

Die Resultate der morphometrischen Bestimmungen der Gesamtlymphknotenfläche/Tier stimmten mit den Ergebnissen der Gewichtsbestimmung überein: sie war bei den Tieren der Überdruckgruppe signifikant größer ($p = o,o15$) als bei den Tieren der Normaldruckgruppe und bei diesen wiederum hochsignifikant größer ($p < o,oo1$) als bei den Kontrolltieren (Abb. 4). Entsprechend der Gesamtlymphknotenfläche war auch die von den

quarzinduzierten Bezirken eingenommene Fläche/Tier bei den Überdrucktieren signifikant größer ($p = o,o21$) als bei den Normaldrucktieren (Abb. 5). Allerdings betraf dieser Größenunterschied der quarzinduzierten Bezirke vor allem die absolute Flächenausdehnung. Zwar war auch der prozentuale Anteil der quarzinduzierten Bezirke bei den Überdruckratten größer als bei den Normaldruckratten. Dieser relative Größenunterschied war aber nicht signifikant (Abb. 6). Die Fläche der in den quarzinduzierten Bezirken gelegenen Zonen mit hyalinisierten Kollagenfasern/Tier war bei den Überdrucktieren hochsignifikant größer ($p < o,oo1$) als in den quarzinduzierten Bezirken der Normaldrucktiere (Abb. 7).

D) Diskussion

Die von Koldinow, Ossipkowa und Markmann (7) beschriebenen Untersuchungen an 7o Tauchern unterschiedlichen Dienstalters ließen erkennen, daß die chronischen Veränderungen an Herz und Lunge infolge des Aufenthaltes im Überdruck in drei Stadien unterteilt werden können.Das erste Stadium tritt nach etwa 9-jähriger Tauchtätigkeit auf und ist gekennzeichnet durch eine Hypertrophie der Lunge. Fibröse Lungenveränderungen sollen sich nach 18-jähriger Arbeit einstellen. Mit etwa 24-jähriger Tätigkeit folgt das dritte Stadium, das durch das Auftreten eines Emphysems gekennzeichnet ist.

Am Herzen sollen sich entsprechend diesen Lungenveränderungen die Zeichen einer Hypertrophie (Volumenzunahme) der rechten Kammerwand finden (7).

Eine Bestimmung der Herzgewichte der zunächst getöteten 5 Ratten pro Versuchsgruppe ergab keinen Anhalt für das Vorliegen einer Hypertrophie der rechten Herzkammer (+) bei den Ratten der Überdruckgruppe. Offensichtlich war die Versuchsdauer zu kurz, um eine Hypertrophie zu verursachen.

Für den Nachweis, daß bei Überdruck inhalierter Quarzstaub vermehrt Läsionen in den Lungen und deren regionären Lymphknoten verursacht, war die gewählte Versuchsdauer jedoch ausreichend: Sowohl in den Lungen als auch in den regionären Lymphknoten der Überdrucktiere nahmen die quarzinduzierten Läsionen eine signifikant größere Fläche ein als bei den Normaldrucktieren. Frühere Untersuchungen mit dem "quantitativen Lymphknotentest" (2, 1o, 11, 12, 13) hatten gezeigt, daß die Bestimmung des Anteils quarzinduzierter Bezirke an der Lymphknotenfläche sehr gute Indizien für die Fibrogenität quarzhaltiger Stäube liefert.

Unter quarzinduzierten Bezirken versteht man nach der bisherigen Definition (5, 11, 12, 13) kleinere und größere Bindegewebsherde, die nach Einwirkung von Quarz oder quarzhaltigen Stäuben in den betroffenen Organen, z.B. Lymphknoten, auftreten und sich aus

---

(+) Herrn Dr. Reifschneider, Pathologisches Institut der Universität Düsseldorf, danken wir für die durchgeführten Bestimmungen der Herzgewichte (der rechte Ventrikel wurde gesondert gewogen).

Makrophagen und Fibroblasten bzw. Fibrozyten zusammensetzen sowie im späteren Verlauf retikuläre und kollagene Fasern enthalten. Wie die elektronenmikroskopischen Untersuchungen[+]) ergaben, setzen sich indessen noch nicht völlig "ausgereifte" quarzinduzierte Bezirke zur Hauptsache aus Epitheloidzellen zusammen, die bei früheren lichtmikroskopischen Untersuchungen als Fibroblasten interpretiert worden waren.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß die Bestimmung des Anteils quarzinduzierter Bezirke an der Organfläche brauchbare Parameter für das Ausmaß einer Lungen- und Lymphknotenfibrose liefert. Die quarzinduzierten Bezirke in den Lungen waren aber sowohl bei den Überdruck- als auch bei den Normaldrucktieren "unreifer" als in den Lymphknoten. Sie enthielten kaum kollagene Fasern. Dagegen konnte der Gehalt an kollagenen Fasern in den quarzinduzierten Bezirken der Lymphknoten als zusätzlicher Parameter verwandt werden, um die "fibrogenitätsfördernde Wirkung" des Überdrucks deutlich zu machen.

Zusammengefaßt zeigen die vorliegenden Resultate eindeutig, daß die unter Überdruck erfolgende Inhalation eines silikoseerzeugenden Staubes eine ausgedehntere und stärkere fibrogene Reaktion in den Lungen und deren regionären Lymphknoten verursacht als dies bei Normaldruck der Fall ist.

[+]) Behrendt, H., Hilscher, H., Friedrichs, K.H.: Zur Ultrastruktur quarzinduzierter Lymphknoten-Areale. In Vorbereitung.

Legende zu den Abbildungen 1 - 7

Abb. 1: Prozentualer Anteil des Lymphknotengewichts am Tiergewicht (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 2 a: Fläche der quarzinduzierten Bezirke in der Lunge (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche)

Abb. 2 b: Fläche der quarzinduzierten Bezirke pro Lungenfläche (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 3 a: Histogramm der Herdgrößenverteilung in den Lungen der quarzbelasteten Überdrucktiere. Die absolute Häufigkeit der quarzinduzierten Bezirke ist nach Größenklassen geordnet (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 3 b: Histogramm der Herdgrößenverteilung in den Lungen der quarzbelasteten Normaldrucktiere. Die absolute Häufigkeit der quarzinduzierten Bezirke ist nach Größenklassen geordnet (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 4: Lymphknotenflächen (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 5: Flächen der quarzinduzierten Bezirke in den Lymphknoten (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 6: Flächen der quarzinduzierten Bezirke pro Lymphknotenfläche (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

Abb. 7: Flächen der hyalinisierten Areale in den quarzinduzierten Bezirken der Lymphknoten (arithmetische Mittel und deren Vertrauensbereiche).

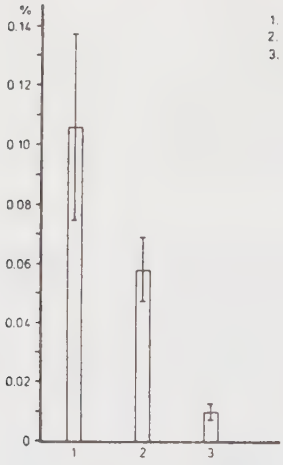

Abb. 1

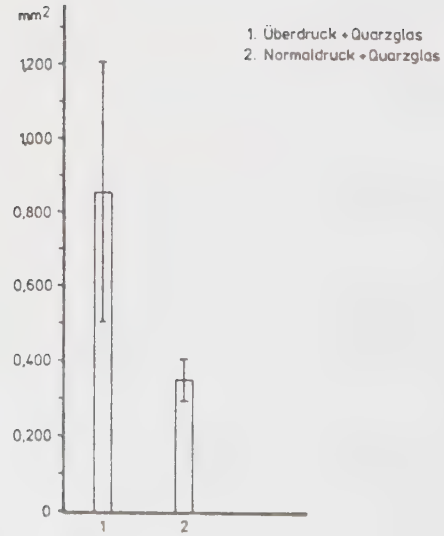

Abb. 2a

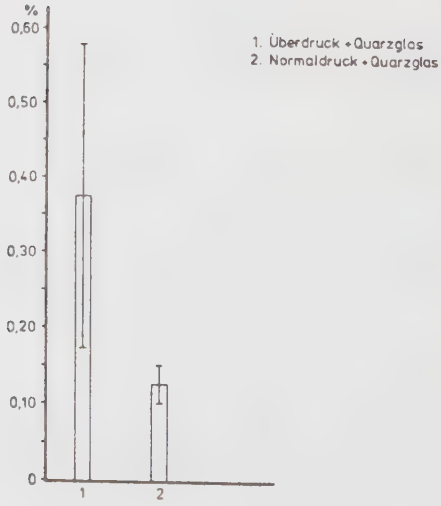

Abb. 2b

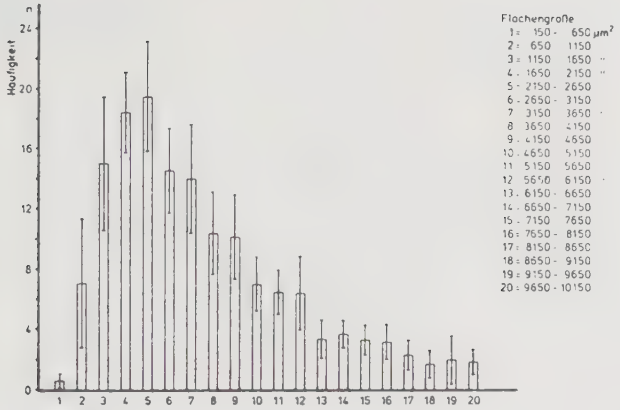
n
24
20
16
12
8
4
0
Häufigkeit
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
Flächengröße
1 = 150 - 650 µm²
2 = 650 - 1150 "
3 = 1150 - 1650 "
4 = 1650 - 2150 "
5 = 2150 - 2650
6 = 2650 - 3150 "
7 = 3150 - 3650 "
8 = 3650 - 4150
9 = 4150 - 4650
10 = 4650 - 5150
11 = 5150 - 5650
12 = 5650 - 6150
13 = 6150 - 6650
14 = 6650 - 7150
15 = 7150 - 7650
16 = 7650 - 8150
17 = 8150 - 8650
18 = 8650 - 9150
19 = 9150 - 9650
20 = 9650 - 10150

Abb. 3a

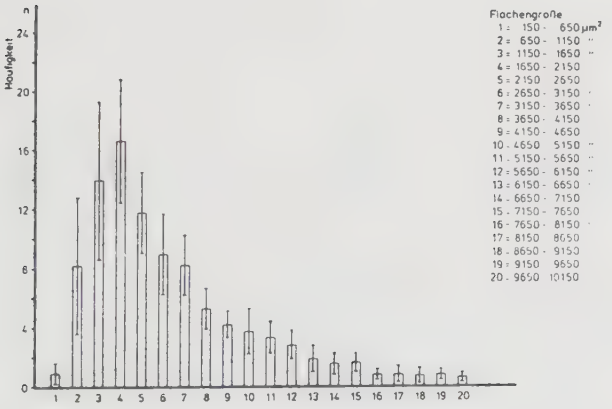
n
24
20
16
12
8
4
0
Häufigkeit
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
Flächengröße
1 = 150 - 650 µm²
2 = 650 - 1150 "
3 = 1150 - 1650 "
4 = 1650 - 2150
5 = 2150 - 2650
6 = 2650 - 3150 "
7 = 3150 - 3650 "
8 = 3650 - 4150
9 = 4150 - 4650
10 = 4650 - 5150 "
11 = 5150 - 5650 "
12 = 5650 - 6150 "
13 = 6150 - 6650 "
14 = 6650 - 7150
15 = 7150 - 7650
16 = 7650 - 8150 "
17 = 8150 - 8650
18 = 8650 - 9150
19 = 9150 - 9650
20 = 9650 - 10150

Abb. 3b

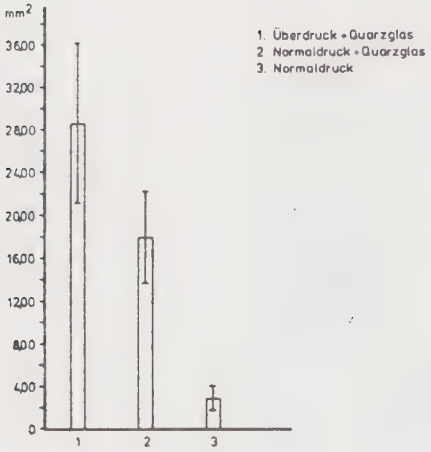

Abb. 4

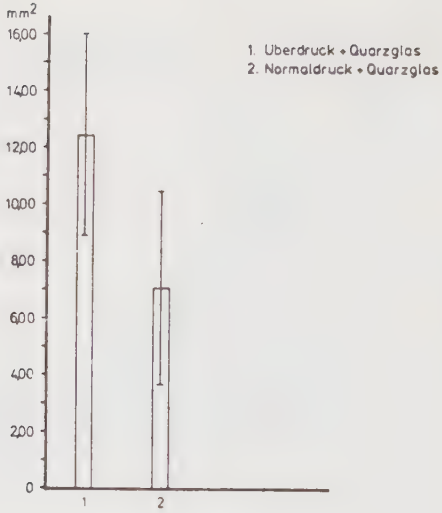

Abb. 5

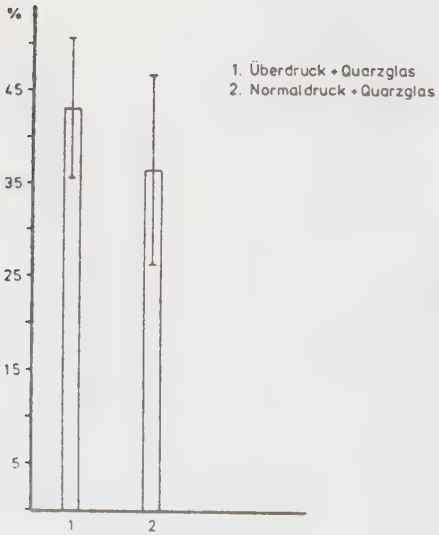

Abb. 6

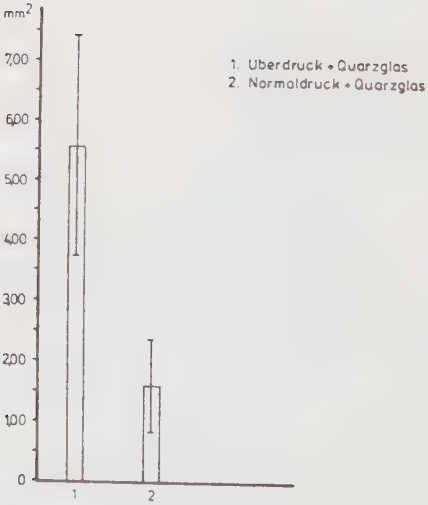

Abb. 7

Schrifttum:

(1) Behrendt, H., Hilscher, H., Friedrichs, K.H.: Zur Ultrastruktur quarzinduzierter Lymphknoten-Areale. (In Vorbereitung).

(2) Flasbeck, R., W. Hilscher, H.-W. Schlipköter und G. Gauß: Quantitative Bestimmung der Ausdehnung von Veränderungen in den Lymphknoten der Ratte nach einmaliger i.p. Gabe verschiedener Substanzen. In: Ergebn. Unters. Geb. Staub- und Silikosebek. im Steinkohlenbergbau. Bd 9. Essen: Verl. Glückauf (1973), S. 159-165.

(3) Friedrichs, K.-H.: Herstellung von Stäuben für Inhalationsversuche bei Überdruckbedingungen. (In Vorbereitung).

(4) Gönner, D.: Zielsetzung der Tagung. In: Spritzbetonbauweise auf Baustellen unter Tage. Tiefbau-Berufsgenossenschaft (1979), S. 5.

(5) Hilscher, W., and H.-W. Schlipköter: Antagonistic factors in the pathogenesis of coal workers' pneumoconiosis. Ann. N.Y. Acad. Sci. (S-Bd Coal workers' pneumoconiosis) 200 (1972), S. 166-181.

(6) Kaufmann, E.: Staubbekämpfung und Belüftung beim Einsatz von Teilschnittmaschinen und beim Betonspritzen. In: Spritzbetonbauweise auf Baustellen unter Tage. Tiefbau-Berufsgenossenschaft (1979), S. 53-62.

(7) Koldinow, W.J., T.A. Ossipkowa und G.J. Markmann: ref. Dtsch.med.Wschr 2341 (196o), S. 85.

(8) Leonhardt, H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Thieme-Verlag (1977), (5.Aufl), S. 1o8.

(9) Ramisch, H.: Forschungsvorhaben.
In: Spritzbetonbauweise auf Baustellen unter Tage. Tiefbau-Berufsgenossenschaft (1979), S. 63-65.

(1o) Rosenstock, J., W. Hilscher, H.-W. Schlipköter, G. Gauß und M. Steiger: Veränderungen in den Mediastinallymphknoten der Ratte nach Gabe von Stäuben, die aus einer menschlichen Silikose-Lunge isoliert worden waren: Untersuchungen mit dem quantitativen Lymphknotentest.
In: Ergebn. Unters. Geb. Staub-und Silikosebek. im Steinkohlenbergbau. Bd 9. Essen: Verl. Glückauf (1973), S. 167-171.

(11) Schlipköter, H.-W., W. Hilscher, J. Bruch, G. Gauß und F. Pott: Histologische Untersuchungen an ausgewählten Mediastinallymphknoten bei Ratten nach Quarzinhalation, mit und ohne PVNO-Behandlung und quantitativer Auswertung des dorsalen rechten Bronchiallymphknotens durch den Digiscan-Phasenintegrator (Kontron-Wild).
In: Ergebn. Unters. Geb. Staub- und Silikosebek. im Steinkohlenbergbau. Bd 9. Essen: Verl. Glückauf (1973), S. 173-176.

(12) Sorowka, H.-J.,U. Krämer, W. Hilscher und H.-W.Schlipköter: Quantitative Bestimmung der Ausdehnung sogenannter quarztypischer Gewebsbezirke in ausgewählten Lymphknoten der Ratte nach intraperitonealer Injektion verschiedener Grubenstäube.
In: Ergebn. Unters. Geb. Staub- und Silikosebek. im Steinkohlenbergbau. Bd 1o. Essen: Verl. Glückauf (1975), S. 177-182.

(13) Weber, A., W. Hilscher, H.-W. Schlipköter, M. Steiger und G. Gauß: Ein quantitativer Lymphknotentest; Untersuchungen an Lymphknoten von Wistar-Ratten nach i.p. Gabe von quarzhaltigen Stäuben und Rutil.
In: Ergebn. Unters. Geb. Staub- und Silikosebek. im Steinkohlenbergbau. Bd 9. Essen: Verl. Glückauf (1973), S. 145-157.

Lebenslauf

Name	:	Klaus Wierschem
Anschrift	:	4300 Essen-11, Brausewindhang 6
Geburtstag	:	23. Juni 1958
Geburtsort	:	Essen
Staatsangehörigkeit	:	deutsch
Familienstand	:	ledig
Eltern	:	Walter Wierschem , geb.:10.10.1930 Tiefbauingenieur Adele Wierschem , geb. Leyendecker geb.:30.05.1929
Geschwister	:	Wilma Norek , geb. Wierschem geb.:18.02.1956 Regina Wierschem , geb.:10.02.1962
Schulbildung	:	1965-1968 Besuch der Grundschule Eichendorffschule, Essen 1968-1971 Besuch der Hauptschule an der Schloßwiese, Essen 1971-1978 Besuch des Don-Bosco-Gymnasiums, Essen
Schulabschluß	:	Abitur 1978
Bundeswehrzeit	:	03.07.1978- 10.10.1978 Freistellung zum Studium
Studium	:	Zahnmedizin in Düsseldorf, Beginn zum Wintersemester 1978/79
Prüfungen	:	Naturwissenschaftliche Vorprüfung in Düsseldorf, Oktober 1979 Zahnärztliche Vorprüfung in Düsseldorf, Februar 1981 Zahnärztliche Prüfung in Düsseldorf, Herbst 1983